

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



10/519979



(43) 国際公開日
2004 年 1 月 15 日 (15.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/005296 A1

(51) 国際特許分類⁷: C07D 493/14, A61K 31/352,
A61P 11/02, 17/00, 27/14, 37/08, 43/00, A61K 7/00, 7/02,
7/075, 7/48, 7/50, A23L 1/30, 2/00, A61K 7/06

茨木市 奈良町 5 番 205 号 Osaka (JP). 辻 邦郎
(TSUJI, Kuniro) [JP/JP]; 〒422-8005 静岡県 静岡市
池田 1375 番地 11 号 Shizuoka (JP). 糠谷 東雄
(NUKAYA, Haruo) [JP/JP]; 〒424-0885 静岡県 静岡市
清水草薙杉道 1 丁目 5 番 5 号 Shizuoka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/008481

(22) 国際出願日: 2003 年 7 月 3 日 (03.07.2003)

(74) 代理人: 社本 一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.); 〒
100-0004 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大
手町ビル 206 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo
(JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): BR, CA, CN, KR, SG, US.

(30) 優先権データ:
特願2002-194828 2002 年 7 月 3 日 (03.07.2002) JP

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サント
リー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-
8203 大阪府 大阪市 北区 堂島浜 2 丁目 1 番 40 号
Osaka (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 石倉 義之
(ISHIKURA, Yoshiyuki) [JP/JP]; 〒567-0874 大阪府

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL DERIVATIVE OF FLAVONE C-GLYCOSIDE AND COMPOSITION CONTAINING THE SAME

(54) 発明の名称: フラボン C 配糖体の新規誘導体及びそれを含有する組成物

(57) Abstract: It is intended to provide a novel flavone C-glycoside derivative or its salt showing, in particular, an antiallergic effect and a composition containing the same. Allergic diseases have been increasing in the recent years. Among all, pollenosis and atopic dermatitis are remarkably increasing to thereby result in social problems. Flavones and glycosides thereof, which are reported as having an effect of inhibiting the release of histamine from adipocytes and an immunosuppressive effect, are expected as being applicable as remedies for allergy. However, most of flavones should be taken in a large dose to exert the effects and, therefore, it has been urgently required to find out a compound exhibiting the effects at a smaller dose. Under these circumstances, it is intended to provide a novel component whereby allergic diseases can be treated in a small dose and a composition containing the same.

(57) 要約: 本発明は、特に抗アレルギー作用を示す、フラボン C 配糖体の新規誘導体あるいはその塩及びそれを含有する組成物に関する。近年、アレルギー性疾患が増加しており、特に花粉症とアトピー性皮膚炎の増加は著しいものがあり、社会問題にすらなっている。フラボンおよびその配糖体には肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用や免疫抑制作用があることが報告されており、アレルギー治療薬としての応用が期待されている。しかし、ほとんどのフラボンはその効果を示す用量が高く、もっと低用量で効果を示す化合物が切望されている。本発明は、アレルギー性疾患を低用量で治療できる新規成分及びそれを含有する組成物を提供する。

WO 2004/005296 A1

明細書

フラボンC配糖体の新規誘導体及びそれを含有する組成物

技術分野

- 5 本発明は、特に抗アレルギー作用を示す、フラボンC配糖体の新規誘導体あるいはその塩及びそれを含有する組成物に関する。

背景技術

- 10 近年、種々の疫学調査によりアレルギー性疾患が増加していることが明らかになっている。特に、花粉症とアトピー性皮膚炎の増加は著しいものがあり、社会問題にすらなっている。アレルギーの増加のみならず、大気汚染や食品添加物、食習慣の変化といった我々を取りまく環境の変化が、このようなアレルギーの増加の原因であると推定されている（伊藤, 総合臨床, 41:3099(1992)）。アレルギー性疾患の治療方法は、まず原因となるアレルギーを除去したり、摂取しないことを基本とし、症状の程度や各疾患の発症機序に基づいた薬物療法が行われている。
- 15 アレルギー反応は、その原因となる免疫グロブリン、関与する免疫細胞により、I型からIV型の4つの型に分けられる。I型からIII型アレルギーは、体液性抗体関与する免疫反応であり、アレルギー反応が速やかに現れるので即時型アレルギーとも言われ、IV型アレルギーは抗体が関与せず、感作リンパ球が関与する細胞性免疫反応であり、遅延型アレルギーとも言われている（富岡, 総合臨床, 41:3103(1992)）。
- 20

これらのアレルギー反応のうち、花粉症やアトピー性皮膚炎には、I型およびIV型アレルギー反応が関与していると考えられており、その治療には抗ヒスタミン剤、塩基性抗アレルギー剤やステロイド剤などが用いられている。

- 25 一方で、ウーロン茶抽出物やお茶中のエピガロカテキンガレートを利用した抗アレルギー剤に関する特許も出願されている（特開平 10-077231、特開平 10-175874、特許 3023962 など）。また、フラボンおよびその配糖体には肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用や免疫抑制作用があることが報告されており、アレルギー治療薬としての応用が期待されている（Kubo M. et al, Chem. Pharm. Bull.

32 : 5051 (1984))。しかし、ほとんどのフラボンはその効果を示す用量が高く、もっと低用量で効果を示す化合物が切望されている。

発明の開示

- 5 本発明は、抗アレルギー作用を有する物質を単離・同定し、アレルギー性疾患を低用量で治療できる新規成分およびそれらを含む組成物を提供することを目的とする。

本発明者は、上記課題を解決するため、ウーロン茶の抗アレルギー作用に注目しウーロン茶中の抗アレルギー成分を詳細に検討した結果、新規フラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩が2,4-ジニトロフルオロベンゼン(DNFB)により誘発される耳介浮腫形成の抑制作用および腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する抑制効果があることを見出した。また、それらを医薬組成物、食品組成物、あるいは化粧品中の有効成分として利用しうることを見出し、本発明を完成した。

15

図面の簡単な説明

図1は、実験例1で行った、本発明の化合物(1)で投与量が0.2、1.0および5.0 $\mu\text{g/kg}$ となる3種の濃度のものと対照群として0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸を投与した場合の、マウス耳介接触性皮膚炎に対する抑制効果の差を示すグラフである。

20

図2は、実験例2で行った、本発明の化合物(2)で投与量が1.0、10および100 $\mu\text{g/kg}$ となる3種の濃度のものと対照群として0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸を投与した場合の、マウス耳介接触性皮膚炎に対する抑制効果の差を示すグラフである。

25

図3は、フラボノイドの構造を示す。

発明を実施するための最良の形態

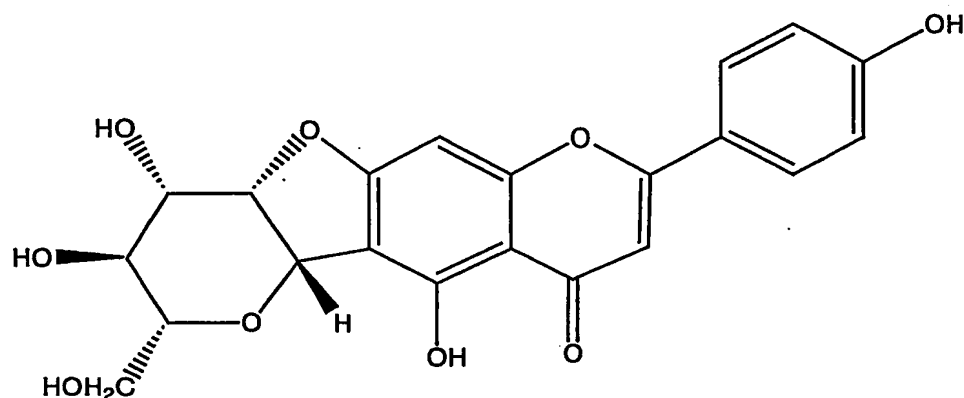
上述のように本発明者は、上記課題を解決するため、ウーロン茶の抗アレルギー作用に注目しウーロン茶中の抗アレルギー成分を詳細に検討した結果、新規フ

ラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩が2,4-ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）により誘発される耳介浮腫形成の抑制作用および腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する抑制効果があることを見出した。また、それらを医薬組成物、食品組成物、あるいは化粧品中の有効成分として利用しようことを見出し、

5 本発明を完成した。

したがって、本発明は、式（1）：

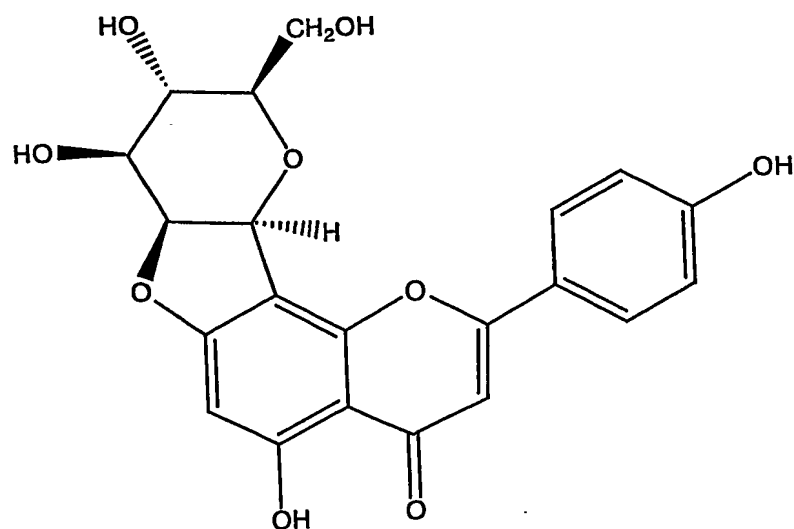
化1



で示されるフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩に関する。

また、本発明は、式（2）：

化2



で示されるフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩に関する。

本発明は、前記フラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩の少なくとも一種を含有するアレルギー性疾患の予防及び／または治療用医薬組成物に関する。また、該アレルギー性疾患が、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、花粉症より選ばれた
5 少なくとも一つの疾患である、医薬組成物に関する。

本発明は、前記フラボンC配糖体の誘導体（１）又は（２）あるいはその塩の少なくとも一種を含有する食品組成物に関する。更に本発明は、該食品組成物が、特定保健用食品、特殊栄養食品、栄養補助食品としての飲料あるいはその他の栄養飲料、健康飲料、健康茶、その他の飲料である、食品組成物に関する。また、
10 該食品組成物が、菓子類、パン、麺類、大豆加工品、乳製品、卵加工品、練り製品、油脂又は調味料である、食品組成物に関する。

更に、本発明は、前記フラボンC配糖体の誘導体（１）又は（２）あるいはその塩の少なくとも一種を含有する化粧品に関する。また、本発明は、該化粧品が、スキンケア製品、メイクアップ製品、毛髪化粧品又は入浴料である、化粧品に関する。
15

本発明に係る式（１）及び／又は式（２）のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩は、例えば、茶葉を原料として、加熱と溶媒による抽出、濃縮、精製等の一般的な化学分離精製手段（例えば、分画やクロマトグラフィー）を施すことにより得られる。

20 製造の際に用いられる茶葉としては、*Camellia sinensis*（カメリア・シネンシス）の葉及び／またはこれを加工した茶葉を用いることができる。特にウーロン茶を用いるのが好ましい。ウーロン茶とは、中国福建省、広東省、あるいは台湾などを主産地とする中国原産の半発酵茶である。

溶出に用いる溶媒は、水系溶媒および／または有機溶媒いずれでもよいが、水系溶媒用いるのが好ましい。水系溶媒は、水、エタノールあるいはメタノールなどが望ましい。水単独もしくは水とメタノール、エタノールなどの低級アルコールとの任意の混合溶液であってもよい。
25

抽出に際してのウーロン茶と溶剤との比率も特に限定されるものではないが、ウーロン茶１に対して溶媒２から１０００重量倍、特に抽出操作、効率の点を考

慮すると5から100重量倍が好ましい。

また、溶出の際の温度は、溶媒の融点より高く、沸点より低い温度であれば、特に限定されるものではないが、水では10℃から100℃、エタノールおよびメタノールでは10℃から40℃が望ましい。抽出時間は10秒から24時間の

5 範囲とするのが好ましい。

化学分離精製手段としては、化学分離精製手法として一般的に用いられる方法を使用することができ、例えば、液-液分配、薄層クロマトグラフィー、吸着カラムクロマトグラフィー、分配カラムクロマトグラフィー、ゲルろ過カラムクロマトグラフィー、イオン交換カラムクロマトグラフィー、電気泳動や高速液体クロマトグラフィーなどを用いることができる。また、必要に応じこれらの分離精製手段を組み合わせ、本発明に係る式(1)及び式(2)のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩を高純度に精製することもできる。

本発明に係る式(1)及び式(2)のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩は、抗アレルギー作用を示すので、医薬、食品及び化粧品等のような各種用途に用いることができる。医薬としては、式(1)及び/又は式(2)の化合物あるいはその塩は、DNFBにより誘発される耳介浮腫形成抑制作用およびヒスタミン遊離抑制作用を示すことから、抗アレルギー剤として、特にアトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎や花粉症の治療目的に使用できる。食品としては、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎や花粉症の症状の緩和や予防の目的で、特定保健用食品、
15 特殊栄養食品、栄養補助食品、健康食品などに食品添加物として配合できる。添加対象の食品としては、各種食品に可能である。飲料としては、特定保健用食品、特殊栄養食品、栄養補助食品としての飲料やその他の栄養飲料、健康飲料、各種の健康茶、その他の飲料などに配合できる。他の食品としては、菓子類、パン、麺類、大豆加工品、乳製品、卵加工品、練り製品、油脂、調味料等が挙げられる。
20 化粧品としては、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎や花粉症の症状の緩和や予防の目的で、スキンケア製品、ファンデーションやメイクアップ製品等に式(1)及び/又は式(2)の化合物あるいはその塩を添加することができる。

医薬に関しては、式(1)及び/又は式(2)の化合物あるいはその塩をそのまま、あるいは水等で希釈して、経口的に投与できる。もしくはこれを公知の医

薬用担体と共に製剤化することにより調製される。例えば、式（１）及び／又は式（２）の化合物あるいはその塩をシロップ剤などの経口液状製剤として、またはエキス、粉末などに加工して、薬学的に許容される担体と配合し、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤などの経口固形製剤として投与できる。薬学的に許容できる担体としては、製剤素材として慣用の各種有機あるいは無機担体物質が用いられ、固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、液状製剤における溶剤、賦形剤、懸濁化剤、結合剤などとして配合される。また、必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色料、甘味剤などの製剤添加物を用いることもできる。

賦形剤の好適な例としては、例えば、乳糖、白糖、D-マンニトール、デンプン、結晶セルロース、軽質無水ケイ酸などが挙げられる。滑沢剤の好適な例としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、コロイドシリカなどが挙げられる。結合剤の好適な例としては、例えば、結合セルロース、白糖、D-マンニトール、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。崩壊剤の好適な例としては、例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。液剤として好適な例は、例えば、精製水、アルコール、プロピレングリコールなどが挙げられる。懸濁化剤として好適な例は、例えば、ステアリン酸エタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤；および例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子が挙げられる。防腐剤の好適な例としては、例えば、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸などが挙げられる。抗酸化剤として好適な例は、例えば、亜硫酸塩、アスコルビン酸などが挙げられる。

剤形としては、疾病の種類や程度等にも依存するが、例えば、経口、非経口又は鼻内投与に適したもの、錠剤又は糖衣錠、舌下錠、ゼラチンカプセル剤、トロ
ーチ剤、坐剤、クリーム剤、軟膏剤、皮膚用ゲル剤等を挙げることができる。また、有効な用量は、患者の年齢及び体重、疾病の種類及び重篤度並びに投与の経
5 路により変化する。単位用量は、一般に、24時間当たり1～3投与で一処理当
たり0.0001～100mg/kgの範囲である。

食品に関しては、式(1)及び／又は式(2)の化合物あるいはその塩を、そ
のままの形で、あるいはエキス、粉末などに加工して、飲食物の形として投与で
きる。また、一般に用いられている飲食物素材及び飲食物製造上に許容される担
10 体と配合し、飲料、菓子類、パン、麺類、大豆加工品、乳製品、卵加工品、練り
製品、油脂又は調味料などとして提供することができる。

本発明において飲料とは、ウーロン茶ドリンク、他の茶ドリンクと混合した茶
ドリンク、炭酸飲料、果実飲料、乳酸菌飲料、スポーツ飲料、豆乳およびワイン、
焼酎、ウィスキー、清酒などの酒類などをいう。

15 本発明において菓子類とは、ビスケット類、チョコレート類、キャンデー類、
チューインガム類、スナック菓子類、油菓類、洋生菓子類、和菓子類、アイスク
リーム類、ゼリー菓子などをいう。

大豆加工品には豆腐などが含まれ、乳製品にはヨーグルト、バターなどが含ま
れる。卵加工品には卵焼、茶碗蒸しなどが含まれ、練り製品にはかまぼこなどが
20 含まれる。調味料にはソース、ドレッシング、マヨネーズ、ふりかけなどが含ま
れる。これらは常法により製造することができる。

飲食物製造上許容できる担体としては、砂糖、ブドウ糖、果糖、異性化液糖、
フラクトオリゴ糖、アスパルテーム、ソルビトール、ステビアなどの甘味料；赤
キャベツ色素、ぶどう果皮色素、エルダベリー色素、カラメル、クチナシ色素、
25 コーン色素、サフラン色素、カロチンなどの着色料；ペクチン分解物、安息香酸、
ソルビン酸、パラオキシ安息香酸エステル類、ソルビン酸カリウムなどの保存料；
アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、繊維素グリ
コール酸カルシウム、繊維素グリコール酸ナトリウムなどの糊料；L-アスコル
ビン酸、トコフェロール、エリソルビン酸、ルチンなどの酸化防止剤；硫酸第一

鉄、亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウムなどの発色剤；亜硫酸水素ナトリウム、メ
タ重亜硫酸カリウムなどの漂白剤；プロピレングリコールなどの品質保持剤；L
ーシステイン塩酸塩、ステアリル乳酸カルシウムなどの品質改良剤；塩化アンモ
ニウム、d-酒石酸水素カリウム、炭酸アンモニウム、炭酸カリウム、炭酸水素
5 ナトリウム、ミョウバンなどの膨張剤；レシチン、スフィンゴ脂質、植物性ステ
ロール、大豆サポニン、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコー
ルエステルカゼインナトリウム、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エス
テル、ソルビタン脂肪酸エステルなどの乳化剤、コンドロイチン硫酸ナトリウム
などの乳化安定剤；レモン油、ユーカリ油、はっか油、バニラ抽出物、オレンジ
10 油、ガーリック油、アセト酢酸エチル、アニスアルデヒド、エチルバニリン、ケ
イ皮酸、酢酸シトロネリル、シトラール、バニリン、酪酸ブチル、エステル類な
どの着香料；L-アスコルビン酸、L-アスパラギン、L-アラニン、イノシト
ール、L-グルタミン、カロチン、トコフェロール、ビタミンA、葉酸、クエン
酸鉄、ヘム鉄、未焼成カルシウムなどの強化剤；過酸化ベンゾイル、過硫酸アン
15 モニウム、二酸化塩素などの小麦粉改良剤；サラシ粉、過酸化水素、次亜塩素酸
などの殺菌料；アセチルリシノール酸メチル、エステルガム、酢酸ビニル樹脂、
ポリイソブチレン、ポリブテンなどのチューインガム基礎剤、D-マンニットな
どの粘着防止剤；酸性ピロリン酸ナトリウム、ピロリン酸カリウム、ピロリン酸ナ
トリウムなどの結着剤；アジピン酸、クエン酸、グルコン酸、コハク酸、d-酒
20 石酸、乳酸、d,l-リンゴ酸などの酸味料；魚介エキス、酵母エキス、コンブエ
キス、しょうゆ、トマトピューレ、肉エキス、みりん、果実ピューレ、かつおぶ
し、L-アスパラギン酸ナトリウム、DL-アラニン、L-アルギニン、L-グ
ルタミン酸塩、5'-イノシン酸二ナトリウム、クエン酸三ナトリウム、L-グ
ルタミン酸、L-グルタミン酸ナトリウム、コハク酸、L-酒石酸、乳酸ナトリ
25 ウムなどの調味料などがある。

本発明によって提供される式（1）及び／又は式（2）の化合物あるいはその
塩は、そのまま又は水等で希釈して、或は濃縮して、或は粉末化又は顆粒化して、
公知の担体と共に配合することにより、エアゾール剤、液剤、エキス剤、懸濁剤、
乳剤、軟膏剤、パップ剤、リニメント剤、ローション剤の形態として提供できる。

或は公知の化粧品、医薬部外品、医薬品に用いられる、水性成分、界面活性剤、油性成分、可溶化剤、保湿剤、粉末成分、アルコール類、pH調整剤、防腐剤、酸化防止剤、増粘剤、色素、顔料、香料などを必要に応じて適宜選択することにより調製される。皮膚外用剤として、ローション状、ゲル状、乳剤、軟膏等の剤

5 形とすることもできる。

本発明においてスキンケア製品とは、柔軟性化粧水、収斂性化粧水などの化粧水類、エモリエントクリーム、モイスチャアクリーム、マッサージクリーム等のクリーム類、エモリエント乳液、ナリシング乳液、クレンジング乳液等の乳液類などをいう。

10 メイクアップ化粧料とは、洗顔料、皮膚洗浄剤、ファンデーション、アイカラー、チークカラー、口紅などをいう。

毛髪化粧料とは、シャンプー、リンス、ヘアトリートメント剤、ヘアークリーム、整髪剤、ヘアートニック、養毛剤、育毛剤などをいう。入浴料とは、バスオイル、バスソルト、フォームバスなどをいう。

15 食品や化粧料に関しても、その配合量は特に限定されないが、一般的に乾燥固形分に換算して0.0001～100重量%、特に0.001～50重量%とするのが好ましい。

本発明を実験例及び実施例によってさらに詳しく説明するが、本発明の範囲はこれらのみに限定されるものではない。

実施例

20 実施例1：製造例

中国福建省産のウーロン茶茶葉 5.0 kg を熱水100Lを用いて抽出し、放冷後30Lの合成吸着剤(DIAION HP-21、三菱化学社製)を充填したカラムに付し、さらに非吸着画分を30Lの合成吸着剤(DIAION HP-20、三菱化学社製)を充填したカラムに付し、水に対するエタノールの含量を順次増やして流出させ（それ
25 ぞれ60Lずつ）、4つの画分を得た〔エタノール濃度＝0%（0HF3N）、20%（0HF4N）、40%（0HF5N）、99.5%（0HF6N）〕。

これら4つの画分のうち最もDNFBにより誘発される耳介浮腫形成抑制作用の強かった0HF3N画分を濃縮・凍結乾燥し（517g）、さらに水-n-ブタノールによる向流分配（n=7）を行い、移行回数7回の画分の減圧濃縮物（2.1g）を

Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 社製) を充填したカラムに付し、メタノールで溶出し、Kd 値 1.9~2.2 の画分を集めた。その減圧濃縮物を HPLC により分離した。カラムは SENSU PAK DIOL-1251 (SENSU 化学社製、4.6×250mm)、移動相はヘキサン：メタノール：テトラヒドロキシフラン=50：35：15 の溶媒を用い、流速 1ml/min (30℃) で溶出させ、保持時間 5.8 分に溶出するピーク (UV 280nm) を分取した。減圧濃縮後、YMC-Pack ODS-A (ワイエムシー社製、4.6×150mm) を用いた HPLC により精製した。分取後、減圧濃縮により、980 μg の淡黄色粉末を得た。

NMR、MS 等のスペクトルおよび X 線解析による構造解析を行った結果 (表 1 および表 2)、本化合物は、式 (1) の Isovitexin (図 3 参照) の 7 位の OH と糖鎖の 1 位の OH が分子内脱水縮合した化合物 [化合物 (1)] であると同定した。

表 1

化合物 (1) の ^1H -NMR および ^{13}C -NMR による構造決定

moiety	Aglycone		Sugar		
	C	H		C	H
2	168.1		1"	74.6	5.21 d
3	102.9	6.58 s	2"	89.0	4.67 t
4	184.8		3"	73.9	3.98 t
5	168.7		4"	69.8	3.58 t
6	112.6		5"	80.6	3.33 m
7	166.5		6"	63.5	3.62 m, 3.83 m
8	91.8	6.64 s			
9	161.2				
10	107.9				
1'	119.3				
2'	130.2	7.80 d			
3'	119.3	6.80 d			
4'	168.1				
5'	119.3	6.80 d			
6'	130.2	7.80 d			

化合物 (1) の ^1H -NMR および ^{13}C -NMR による構造決定 (ppm. in CD_3OD)

表 2

化合物 (1) の X 線解析による構造決定

Crystal Dimensions	0.10X0.05X0.20mm
Lattice Parameters	a=10.811(6) Å b=26.270(6) Å c=6.905(1) Å V=1961.0(9) Å ³
Space Group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Z value	4
D _{calc}	1.403g/cm ³
R value	0.078

化合物 (1) の精製過程における 0HF3N 画分 (5.17 g) を水-n-ブタノールによる向流分配 (n=7) を行い、移行回数 7 回の画分の減圧濃縮物 (2.1 g) を Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 社製) を充填したカラムに付し、メタノールで溶出し、Kd 値 1.6~1.9 の画分を集めた。その減圧濃縮物を HPLC により分離した。カラムは SENSU PAK DIOL-1251 (SENSU 化学社製、4.6×250mm)、移動相はヘキサン:メタノール:テトラヒドロキシフラン=50:35:15 の溶媒を用い、流速 1 ml/min (30℃) で溶出させ、保持時間 5.8 分に溶出するピーク (UV 280 nm) を分取した。減圧濃縮後、YMC-Pack ODS-A (ワイエムシー社製、4.6×150mm) を用いた HPLC により精製した。分取後、減圧濃縮により、147 μg の淡黄色粉末を得た。

NMR、MS 等のスペクトルおよび X 線解析による構造解析を行った結果 (表 3 および表 4)、本化合物は、式 (2) の Vitexin (図 3 参照) の 7 位の OH と糖鎖の 1 位の OH が分子内脱水縮合した化合物 [化合物 (2)] であると同定した。

表 3 化合物(2)の ^1H -NMRおよび ^{13}C -NMRによる構造決定

moiety	Aglycone			Sugar	
	C	H		C	H
2	166.8		1"	75.1	5.47 d
3	104.3	6.66 s	2"	89.1	4.78 t
4	184.4		3"	73.8	4.05 t
5	166.2		4"	69.8	3.62 t
6	96.3	6.39 s	5"	80.5	3.47 m
7	168.9		6"	63.4	3.65 m, 3.87 m
8	108.5				
9	155.1				
10	106.7				
1'	125.0				
2'	130.2	7.90 d			
3'	118.0	6.93 d			
4'	164.9				
5'	118.0	6.93 d			
6'	130.2	7.90 d			

化合物(2)の ^1H -NMRおよび ^{13}C -NMRによる構造決定 (ppm. in CD_3OD)

表 4

化合物(2)のX線解析による構造決定

Crystal Dimensions	0.03X0.10X0.30mm
Lattice Parameters	a=9.785(2) Å b=19.700(5) Å c=4.9357(8) Å V=950.1(3) Å ³
Space Group	P2 ₁
Z value	2
D _{calc}	1.560g/cm ³
R value	0.058

実験例 1 : マウス耳介接触性皮膚炎に対する抑制効果

使用動物は、7週令のICR系マウスを日本クレア(株)より購入し、1週間の予備飼育の後、実験に用いた。実施例1で得た黄色粉末〔化合物(1)〕を0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸に懸濁して、投与量が0.2、1.0および5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ になる3種の濃度のものを、投与量が10ml/kgになるよう

に調製した。マウスは1群6匹とし、背部皮下に1%の2,4-ジニトロフルオロベンゼン (DNFB) エタノール溶液100 μ l を注射し、5日間で感作を成立させた。6日目に右耳介に1%DNFBオリーブ油溶液を塗布し、耳介接触性皮膚炎を惹起させた。24時間後、両耳を直径8mm のパンチで打ち抜き、重量を測定した。化合物(1) は、初回感作の前日より浮腫惹起当日までの7日間、連続経口投与を行った。対照群としては、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸投与を行った。実験結果は、左耳介に対する右耳介の浮腫率の平均値と標準誤差で表し、群間の有意差検定には、Student の t-検定を用いた。その結果を図1に示す。図1から明らかなように、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸投与による対照群と比較して、化合物(1) 1.0 および5.0 μ g/kg 投与群において、DNFBによる浮腫が有意に抑制された。

実験例2：マウス耳介接触性皮膚炎に対する抑制効果

使用動物は、7週令のICR系マウスを日本クレア(株)より購入し、1週間の予備飼育の後、実験に用いた。実施例1で得た黄色粉末〔化合物(2)〕を0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸に懸濁して、投与量が1.0、10 および100 μ g/kg になる3種の濃度のものを、投与量が10ml/kg になるように調製した。マウスは1群6匹とし、背部皮下に1%の2,4-ジニトロフルオロベンゼン (DNFB) エタノール溶液100 μ l を注射し、5日間で感作を成立させた。6日目に右耳介に1%DNFBオリーブ油溶液を塗布し、耳介接触性皮膚炎を惹起させた。24時間後、両耳を直径8mm のパンチで打ち抜き、重量を測定した。化合物(2) は、初回感作の前日より浮腫惹起当日までの7日間、連続経口投与を行った。対照群としては、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸投与を行った。実験結果は、左耳介に対する右耳介の浮腫率の平均値と標準誤差で表し、群間の有意差検定には、Student の t-検定を用いた。その結果を図2に示す。図2から明らかなように、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム/0.01N塩酸投与による対照群と比較して、化合物(2) 100 μ g/kg 投与群において、DNFBによる浮腫が有意に抑制された。

実験例3：腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する抑制効果

使用動物は、7週令のWistar系ラットを日本クレア(株)より購入し、1週間

の予備飼育の後、実験に用いた。Wistar 系ラットをエーテル麻酔下に断頭致死させた後、腹腔内に Tyrode 液を注入した。慣用方法により肥満細胞を単離し、 $1 \sim 3 \times 10^8$ cell/ml となるように 0.1% 牛血清アルブミン (BSA) 含有 Tyrode 液に懸濁して、肥満細胞浮遊液を調製した。50%メタノールに溶解した化合物 (1) または化合物 (2) を上記肥満細胞浮遊液に加えて、37℃、5 分間インキュベートを行った。その後、Compound 48/80 を加えて、37℃、10 分間インキュベートを行い、氷冷後、遠心分離した上清を Onda らの方法 [J. Med. Sci., 27, 93-97(1978)] に準じてオルトフタルアルデヒド (OPA) を用いたポストカラム法による高速液体クロマトグラフで遊離ヒスタミン量を測定した。実験結果は、溶媒のみ処理した時のヒスタミン遊離量に対する、試料で処理した時のヒスタミン遊離抑制率で表した。その結果を表 5 に示す。

表 5

ヒスタミン遊離抑制試験結果

試料	濃度 ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	ヒスタミン遊離抑制率 (%)
化合物 (1)	5.0	62.3
化合物 (2)	50.0	51.2

実施例 2：ステロイド剤および他のフラボノイドとの効果比較

実験例 1 および実験例 2 と同じ方法を用い、副腎皮質ステロイド剤と数種のフラボノイド (図 3) の DNFB により誘発される耳介浮腫形成抑制作用を化合物 (1) および化合物 (2) と比較した。実験結果は、DNFB により誘発される耳介浮腫形成を 50% 抑制する投与量で表した。その結果を表 6 に示す。

化合物 (1) および化合物 (2) 投与では、副腎皮質ステロイド剤あるいは他のフラボノイドと比較して極少量で耳介浮腫形成抑制作用を示した。

表 6

耳介浮腫形成抑制作用の評価結果

	耳介浮腫を 50 % 抑制する投与量 (mg / kg p. o.)
化合物 (1)	0.05
化合物 (2)	0.17
Dexamethasone	1.5
Apigenin	247
Vitexin	103
Rhamnosyl vitexin	146
Quercetin	265
Rutin	123

実施例 3 : 錠剤の製造例

実施例 1 で得た化合物 (1) 150 g を同量の乳糖およびステアリン酸マグネシウム 5 g と混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠し、直径 10 mm、重量 300 mg の錠剤を製造した。

実施例 4 : 顆粒剤の製造例

実施例 2 で得た錠剤を粉碎、製粒し、篩別して、20 - 50 メッシュの顆粒剤を得た。

実施例 5 : 飴の製造例

以下の材料を使用して常法に従って製造した。

粉末ソルビトール	99.7 g
香料	0.2 g
化合物 (1)	0.05 g
ソルビトールシード	0.05 g
全 量	100 g

実施例 6 : チューインガムの製造例

以下の材料を使用して常法に従って製造した。

ガムベース	20 g
炭酸カルシウム	2 g

	ステビオサイド	0.1 g
	化合物 (1)	0.05 g
	乳 糖	76.85 g
	香 料	1 g
5	全 量	100 g

実施例 7：みかんジュースの製造例

以下の材料を使用して常法に従って製造した。

	冷凍濃縮みかん果汁	5 g
	果糖ブドウ糖液糖	10 g
10	クエン酸	0.2 g
	L-アスコルビン酸	0.02 g
	化合物 (1)	0.05 g
	香 料	0.2 g
	色 素	0.1 g
15	水	残量
	全 量	100 g

実施例 8：ゼリー菓子の製造例

以下の材料を使用して製造した。

	砂 糖	500 g
20	水 飴	500 g
	ペクチン	13 g
	クエン酸	4 g
	クエン酸ナトリウム	1.5 g
	香 料	1 g
25	食用色素	0.2 g
	化合物 (1)	0.5 g

ペクチン 13 g に砂糖 20 g を混合して水 330 ml を加えて、だまにならないように溶かした。さらにクエン酸とクエン酸ナトリウムを加えて、沸騰させた。水飴をこれに加えて、100℃まで加熱後、残りの砂糖を加え、109℃まで昇

温した。数分間静置後、化合物（１）、香料及び色素を加えて攪拌し、スターチモールドに充填して、５０℃以下で１０時間以上乾燥させ、ゼリー菓子を得た。

実施例 ９：かまぼこの製造例

以下の材料を使用して製造した。

- | | | |
|---|------------|-------|
| 5 | スケソウダラのすりみ | 100 g |
| | 食 塩 | 20 g |
| | 調味料 | 2 g |
| | 卵 白 | 10 g |
| | 化合物（１） | 0.5 g |
- 10 スケソウダラのすりみに食塩、調味料及び化合物（１）を加えて練り合わせ、ねかしてから成型して、あらかじめ約 90～95℃に加熱しておいた蒸し器で、蒸し煮して、その後放冷して、かまぼこを得た。

実施例 10：エモリエントクリーム of 製造例

以下の材料を使用して常法に従って製造した。

- | | | |
|----|------------------|--------|
| 15 | ミツロウ | 2.0 g |
| | ステアリルアルコール | 5.0 g |
| | ステアリン酸 | 8.0 g |
| | スクアラン | 10.0 g |
| | 自己乳化型プロピレングリコール | 3.0 g |
| 20 | モノステアレート | |
| | ポリオキシエチレンセチルエーテル | 1.0 g |
| | 香 料 | 0.5 g |
| | 防腐剤 | 適量 |
| | 酸化防止剤 | 適量 |
| 25 | プロピレングリコール | 7.8 g |
| | グリセリン | 4.0 g |
| | ヒアルロン酸ナトリウム | 0.15 g |
| | 化合物（１） | 0.05 g |
| | トリエタノールアミン | 1.0 g |

精製水 57.5 g

実施例 11：シャンプーの製造例

以下の材料を使用して常法に従って製造した。

	アルキルエーテル硫酸ナトリウム	16.0 g
5	ラウリン酸ジエタノールアミド	4.0 g
	プロピレングリコール	1.95 g
	防腐剤、色素、香料	適量
	酸化防止剤	適量
	化合物（1）	0.05 g
10	精製水	78.0 g

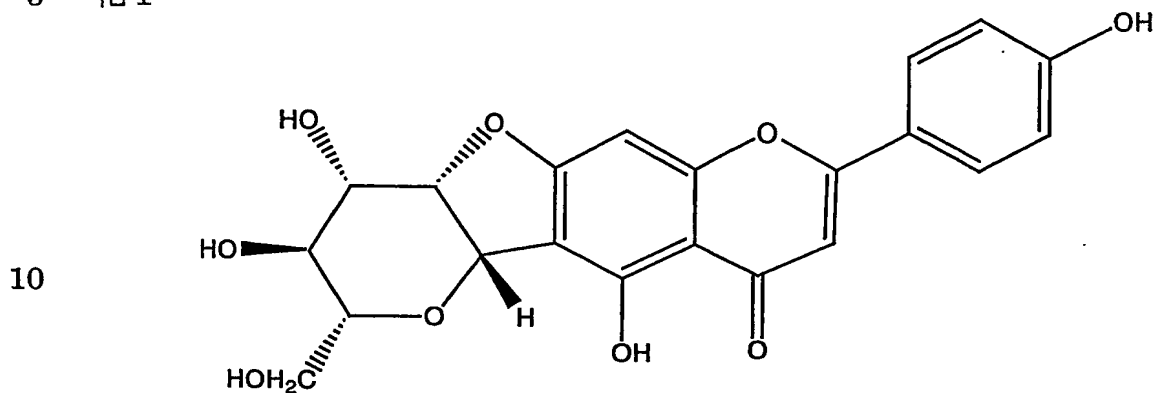
産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、ウーロン茶中に含まれる新規フラボン C 配糖体の誘導体あるいはその塩が顕著な抗アレルギー作用を有することを見出し、それらを有効成分とする医薬組成物、食品組成物、あるいは化粧料を提供することができる。

請求の範囲

1. 式 (1) :

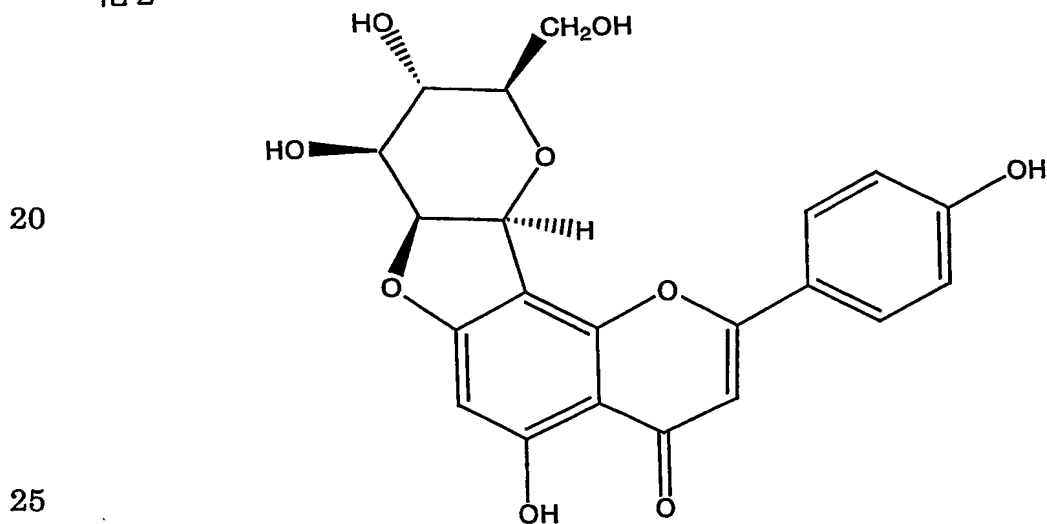
5 化 1



で示されるフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩。

15 2. 式 (2) :

化 2



で示されるフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩。

3. 請求項 1 又は請求項 2 に記載のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩の
少なくとも一種を含有する、アレルギー性疾患の予防及び／または治療用医薬組

成物。

4. 該アレルギー性疾患が、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、花粉症より選ばれた少なくとも一つの疾患である、請求項3に記載の医薬組成物。

5. 請求項1又は請求項2に記載のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩の少なくとも一種を、抗アレルギー性成分として含有する食品組成物。

6. 該食品組成物が、特定保健用食品、特殊栄養食品、栄養補助食品としての飲料あるいはその他の栄養飲料、健康飲料、健康茶、その他の飲料である、請求項5に記載の食品組成物。

10 7. 該食品組成物が、菓子類、パン、麺類、大豆加工品、乳製品、卵加工品、練り製品、油脂又は調味料である、請求項5に記載の食品組成物。

8. 請求項1又は請求項2に記載のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩の少なくとも一種を、抗アレルギー性成分として含有する化粧品。

9. 該化粧品が、スキンケア製品、メイクアップ製品、毛髪化粧品又は入浴料である、請求項8に記載の化粧品。

15 10. 請求項1又は請求項2に記載のフラボンC配糖体の誘導体あるいはその塩の少なくとも一種の、抗アレルギー作用を有する医薬組成物、食品組成物または化粧品の製造への使用。

20

25

図1.

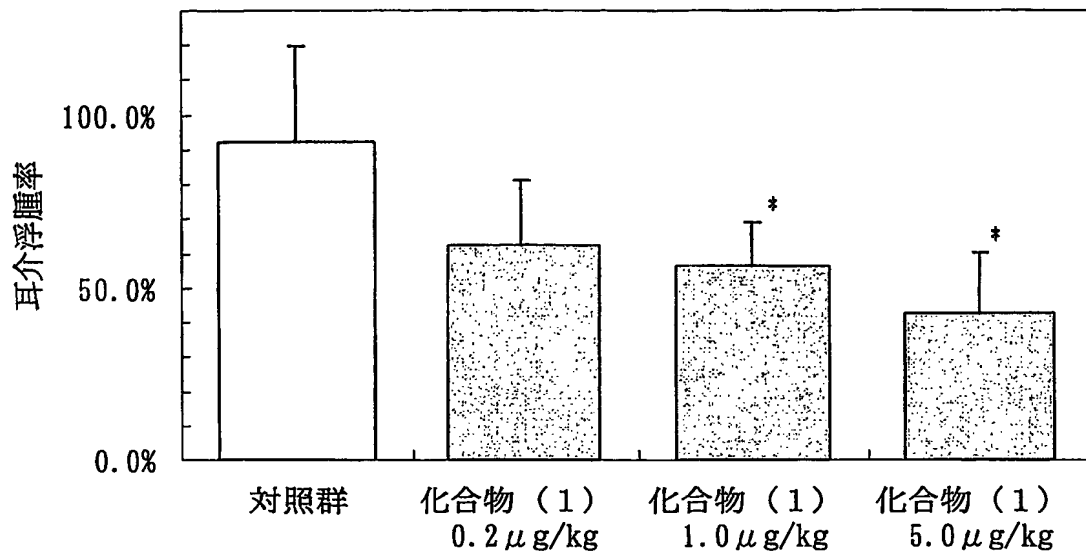
(* : $p < 0.05$ vs 对照群)

図2

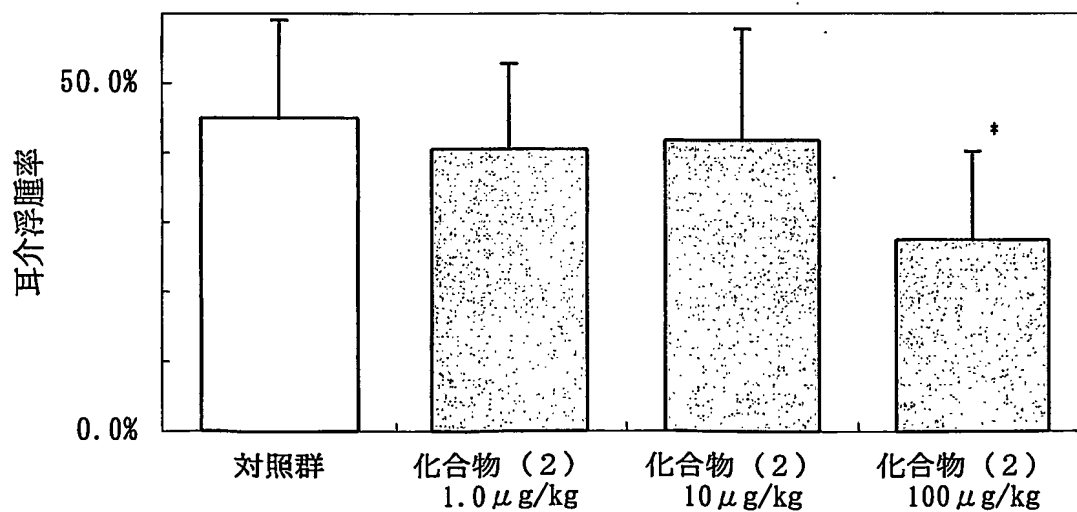
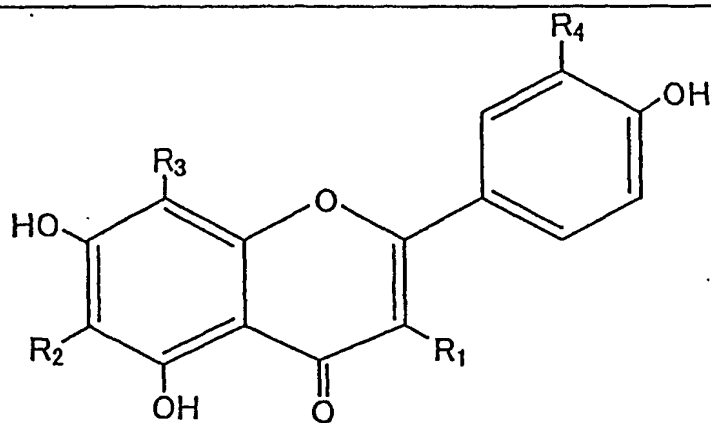
(* : $p < 0.05$ vs 对照群)

図 3

フラボノイドの構造



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Apigenin	H	H	H	H
Vitexin	H	H	Glu	H
Isovitexin	H	Glu	H	H
Rhamnosyl vitexin	H	H	Glu-Rham	H
Violanthin	H	Glu	Rham	H
Quercetin	OH	H	H	OH
Rutin	O-Glu-Rham	H	H	OH

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/08481

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D493/14, A61K31/352, A61P11/02, A61P17/00, A61P27/14, A61P37/08, A61P43/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/06, A61K7/075, A61K7/48, A61K7/50, A23L1/30, A23L2/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D493/14, A61K31/352, A61P11/02, A61P17/00, A61P27/14, A61P37/08, A61P43/00, A61K7/00, A61K7/02, A61K7/06, A61K7/075, A61K7/48, A61K7/50, A23L1/30, A23L2/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KIJIOA, A. et al., 'Further prenylflavonoids from artocarpus elasticus.', Phytochemistry, 1998, Vol.47, No.5, pages 875 to 878	1-10
A	AHLUWALIA, V.K. et al., 'A new convenient synthesis of benzofuroflavones.', Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1987, Vol.26B, No.3, pages 229 to 231	1-10
A	JAIN, A.C. et al., 'Claisen rearrangement of 7-prenyl ethers of chrysin & 3-O-methylgalangin: a novel 3-O-demethylation.', Indian Journal of Chemistry, 1973, Vol.11, No.8, pages 723 to 725	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 October, 2003 (07.10.03)

Date of mailing of the international search report
28 October, 2003 (28.10.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/08481

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 10-77231 A (SUNTORY LTD.), 24 March, 1998 (24.03.98), (Family: none)	1-10
A	EP 853943 A1 (SUNTORY LTD.), 22 July, 1998 (22.07.98), & JP 10-175814 A & US 2002/136753 A & US 2003/96025 A	1-10
A	JP 3-157330 A (Ito En, Ltd.), 05 July, 1991 (05.07.91), (Family: none)	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07D493/14, A61K31/352, A61P11/02, A61P17/00, A61P27/14, A61P37/08, A61P43/00,
A61K7/00, A61K7/02, A61K7/06, A61K7/075, A61K7/48, A61K7/50, A23L1/30, A23L2/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07D493/14, A61K31/352, A61P11/02, A61P17/00, A61P27/14, A61P37/08, A61P43/00,
A61K7/00, A61K7/02, A61K7/06, A61K7/075, A61K7/48, A61K7/50, A23L1/30, A23L2/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	KIJJOA, A. et al. 'Further prenylflavonoids from artocarpus elasticus.' Phytochemistry, 1998, vol.47, no.5, p.875-878	1-10
A	AHLUWALIA, V. K. et al. 'A new convenient synthesis of benzofuroflavones.' Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1987, vol.26B, no.3, p.229-231	1-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.10.03

国際調査報告の発送日

28.10.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大久保元浩

4 C

8828

印

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JAIN, A. C. et al. 'Claisen rearrangement of 7-prenyl ethers of chrysin & 3-O-methylgalangin: a novel 3-O-demethylation.' Indian Journal of Chemistry, 1973, vol. 11, no. 8, p. 723-725	1-10
A	JP 10-77231 A (サントリー株式会社) 1998. 03. 24 (ファミリーなし)	1-10
A	EP 853943 A1 (SUNTORY LTD) 1998. 07. 22 & JP 10-175814 A & US 2002/136753 A & US 2003/96025 A	1-10
A	JP 3-157330 A (株式会社伊藤園) 1991. 07. 05 (ファミリーなし)	1-10